



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

Mestrado Integrado em Medicina

Ano Letivo 2014/2015

Dissertação - Artigo de Investigação Médica

**COMPARAÇÃO DO PERFIL MICROBIOLÓGICO DE DOENTES
INTERNADOS COM PÉ DIABÉTICO INFETADO NO SERVIÇO DE
ENDOCRINOLOGIA DO CENTRO HOSPITALAR DO PORTO NO ANO
DE 2008 E NO ANO DE 2013**

João de Arruda Margarido Palma Ramos

Orientador

Dr. Rui Morais de Carvalho

Porto, 2015

**COMPARAÇÃO DO PERFIL MICROBIOLÓGICO DE DOENTES
INTERNADOS COM PÉ DIABÉTICO INFETADO NO SERVIÇO DE
ENDOCRINOLOGIA DO CENTRO HOSPITALAR DO PORTO NO ANO
DE 2008 E NO ANO DE 2013**

Comparação do Perfil Microbiológico de Doentes Internados com Pé Diabético Infetado no Serviço de Endocrinologia do Centro Hospitalar do Porto no Ano de 2008 e no Ano de 2013

João de Arruda Margarido Palma Ramos

Aluno do Mestrado Integrado em Medicina | 6º ano profissionalizante

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar | Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, PORTUGAL

Rui Manuel da Fonseca Morais Carvalho

Professor Auxiliar Convidado | Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar |
Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº 228, 4050-313 Porto, PORTUGAL

Índice

Resumo	4
<i>Abstract</i>	5
Lista de Abreviaturas	6
Introdução	7
Material e Métodos.....	9
Resultados	10
Discussão.....	15
Referências Bibliográficas	21

Resumo

Introdução: O pé diabético infetado é uma doença grave que resulta em morbilidade considerável para os doentes e custos de tratamento elevados para a sociedade. Um dos componentes mais importantes do tratamento é a instituição de antibioterapia adequada. Esta, por sua vez, depende do conhecimento da prevalência dos diversos agentes infecciosos na lesão, bem como dos perfis de resistência destes aos antimicrobianos.

Objetivos: O objetivo desta investigação é caracterizar o perfil microbiológico dos doentes internados por pé diabético infetado no Serviço de Endocrinologia do Centro Hospitalar do Porto em 2008 e 2013. Em 2009 foi implementado um protocolo de antibioterapia empírica para o tratamento do pé diabético infetado e pretende-se avaliar se tal poderá ter provocado alterações na prevalência dos diversos agentes infecciosos.

Métodos: Colheita de dados clínicos e demográficos dos internamentos por pé diabético infetado através das notas de alta emitidas em 2008 e 2013 e de dados microbiológicos destes mesmos internamentos nas folhas de resultados do Serviço de Microbiologia do Centro Hospitalar do Porto arquivados no Processo Clínico Eletrónico. As diversas variáveis tiveram a sua significância medida através dos testes de *qui-quadrado de Pearson* e *t de Student*, sendo considerado estatisticamente significativo um valor de $p < 0,05$.

Resultados: Os resultados microbiológicos dos dois grupos foram similares, com um predomínio em ambos de microrganismos aeróbios gram-positivo e sendo o *Staphylococcus aureus* o agente mais frequentemente isolado. A nível dos testes de suscetibilidade aos antibióticos, a diferença mais notória foi uma redução da prevalência de estirpes *Staphylococcus aureus* metilino-resistente, que corresponderam a 61,5 % dos isolados em 2008 e 36,7 % dos isolados em 2013.

Conclusões: O perfil microbiológico não se alterou significativamente entre os dois períodos estudados. Os resultados foram comparáveis a estudos previamente realizados em Portugal e em outros países.

Palavras-chave: diabetes; úlcera do pé diabético; pé diabético infetado; antibioterapia; MRSA.

Abstract

Introduction: Diabetic foot infection is a serious disease that results in considerable morbidity for patients and high treatment costs for society. One of the most important components of treatment is the institution of adequate antibiotic therapy. This is dependent on the knowledge of the prevalence of different infectious agents in the lesions, and of their patterns of resistance to antibiotic therapy.

Goals: The goal of this investigation is the characterization of the microbiological profile of patients admitted with diabetic foot infection at the Service of Endocrinology of Centro Hospitalar do Porto in 2008 and 2013. A new antibiotic empirical treatment protocol was implemented in 2009 and we pretend to evaluate if it may have provoked changes in the prevalence of different etiologic agents.

Methods: Clinical and demographic data was collected for patients with diabetic foot infection using the discharge notes emitted in 2008 and 2013. Microbiological data was collected on the reports archived in the electronic clinical process of patients. Variables had their significance measured through *Pearson's chi-square* test and *Student's t-test*. A *p* value of less than 0,05 was considered statistically significant.

Results: Microbiological results were similar, with aerobic gram-positive *cocci* being dominant in both groups and *Staphylococcus aureus* being the single most frequently isolated agent. In the antibiotic susceptibility tests, the most notorious difference was a reduction in the relative frequencies of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from 61,5 % in 2008 to 36,5 % in 2013.

Conclusions: The microbiological profile didn't change significantly between both periods under study. Results were comparable to other investigations in Portugal and other countries.

Keywords: diabetes; diabetic foot ulcer; diabetic foot infection; antibiotic therapy; MRSA.

Lista de Abreviaturas

UPD – Úlcera do pé diabético

PDI – Pé diabético infetado

CHP – Centro Hospitalar do Porto

HbA1c – Hemoglobina glicada

MSSA – *Staphylococcus aureus* metilino-sensível

MRSA – *Staphylococcus aureus* metilino-resistente

ESBL – Beta-lactamases de espetro alargado

Introdução

A diabetes é uma doença com elevada prevalência global, com o número total de doentes estimado em cerca de 171 milhões em 2000 e as previsões para 2030 a apontarem para uma duplicação deste valor¹. Em Portugal, a prevalência estimada na população com idade compreendida entre os 20 e os 79 anos em 2013 foi de 13,0 %, o que equivale a mais de um milhão de indivíduos².

A úlcera do pé diabético (UPD) resulta de uma interação de fatores de risco frequentemente presentes nesta população: a neuropatia, com um papel central e a doença arterial periférica e distúrbios imunológicos com papéis secundários³. Assim sendo, um grande número destes doentes está em risco de desenvolver uma UPD, sendo a prevalência no doente diabético estimada entre 4 a 10 % e o risco cumulativo durante a vida de 25 %⁴. Segundo um ensaio clínico recente de grande dimensão, 58 % das UPDs desenvolvem infeção⁵. Esta situação acarreta uma morbilidade substancial uma vez que a infeção é o fator preponderante na elevada taxa de amputações do membro inferior em doentes diabéticos, que se situa entre 15 a 27 %^{4,6}. Implica também custos consideráveis para a sociedade, com o pé diabético infetado (PDI) a ser responsável por cerca de 25 % dos internamentos hospitalares em diabéticos e pelo maior número de dias de internamento nestes doentes⁶. Em Portugal, ao longo dos últimos dez anos, o “pé diabético” foi responsável por entre 1803 a 2140 internamentos por ano².

Normas de excelência clínica estabelecem a criação de equipas multidisciplinares como uma prioridade chave a implementar nos cuidados hospitalares ao doente com PDI. Estas equipas devem incluir um endocrinologista/diabetologista, um cirurgião com experiência em tratar problemas relacionados com o pé diabético, enfermeiros e podologistas, além de disporem de acesso a outros serviços de diagnóstico e tratamento especializados⁸.

O tratamento do PDI requer a administração de antibióticos, uma vez que o não tratamento da infeção está associado a uma destruição progressiva dos tecidos e incapacidade de cicatrização da úlcera⁹. Entre as decisões que os clínicos têm que tomar ao tratar estes doentes, a escolha do regime de antibioterapia adequado é uma das mais importantes. Se o regime selecionado tiver um espectro demasiado estreito, existe o risco de não proporcionar cobertura suficiente para todos os agentes da infeção, muitas vezes de natureza polimicrobiana. Por outro lado, regimes desnecessariamente abrangentes contribuem para o desenvolvimento de resistências antimicrobianas, toxicidade e custos mais elevados do tratamento¹⁰.

Uma vez que existem variações geográficas e temporais importantes na prevalência dos diversos microrganismos envolvidos no PDI, um conhecimento atualizado da frequência destes agentes nas lesões e dos seus padrões de suscetibilidade aos antimicrobianos é fundamental para o estabelecimento de protocolos de tratamento eficazes¹¹. Apesar de Portugal ser um dos países com prevalência mais elevada de diabetes e amputações no membro inferior, existe ainda algum défice de estudos que permitam caracterizar o perfil dos microrganismos mais comuns no PDI¹². Assim, o objetivo deste artigo de investigação médica é contribuir para um melhor conhecimento dos agentes mais prevalentes na área de influência do Centro Hospitalar do Porto (CHP), bem como dos seus padrões de resistência. Pretende-se caracterizar o perfil microbiológico dos doentes internados por PDI no Serviço de Endocrinologia do CHP nos anos de 2008 e 2013, e aferir a sua evolução neste intervalo de tempo. A introdução em 2009 de um protocolo de tratamento empírico para o pé diabético infetado motivou a escolha destas duas populações específicas.

Material e Métodos

Após autorização obtida por parte da Comissão de Ética para a Saúde do CHP, foram consultados os arquivos de notas de alta emitidas em 2008 e 2013 no Serviço de Endocrinologia deste centro hospitalar e selecionados os doentes cujo motivo de internamento era pé diabético infetado. Apesar de os casos serem efetivamente *internamentos*, ao longo deste estudo utilizaremos indistintamente a palavra *doente*, dado que poucos doentes tiveram mais que um internamento nos períodos em estudo. De cada nota de alta foram obtidos dados que permitissem caracterizar a população, nomeadamente: idade; sexo; tipo de diabetes; tempo decorrido desde o diagnóstico de diabetes; hemoglobina glicada (HbA1c); tipo de pé (neuropático/neuroisquémico); presença de sinais sistémicos de infeção. Foram também recolhidos dados que pudessem refletir o *outcome* clínico: duração do internamento; amputação (menor/menor); e mortalidade intra-hospitalar/até 30 dias após a alta. Para cada caso foi obtido o número de processo, por forma a poder aceder ao Processo Clínico Eletrónico e obter os resultados dos exames microbiológicos arquivados nessa plataforma. Para cada doente foi selecionado apenas o resultado da primeira colheita imediatamente após a admissão no internamento. Nos casos em que esta colheita não existiu, foi selecionado o resultado imediatamente anterior ao internamento, situações em que este foi motivado por identificação em ambulatório de organismos para os quais havia indicação para terapia endovenosa. Após a recolha destes dados, os números de processo foram substituídos por um número de identificação randomizado por forma a assegurar a confidencialidade dos doentes nas bases de dados criadas para o desenvolvimento da investigação.

Análise estatística

Após recolha manuscrita dos dados em formulário próprio, os mesmos foram informatizados em folhas de cálculo de Microsoft Excel 2007™ e, quando necessário, exportados para realização de testes estatísticos no IBM SPSS Statistics 20.0™.

As variáveis qualitativas foram expressas em percentagens e as variáveis quantitativas em média \pm desvio padrão, com exceção da HbA1c (não tem uma distribuição normal). O tempo estimado de duração da diabetes foi classificado em intervalos de 5 anos, dado consistir geralmente de um valor estimado e pouco preciso nos registos clínicos.

Para testar as diferenças entre as variáveis categóricas foi utilizado o teste de *qui-quadrado de Pearson*, e para testar as diferenças entre as variáveis numéricas o teste *t de Student*. Em todos os testes foi considerado como estatisticamente significativo um valor de *p* inferior a 0,05.

Resultados

Foram identificados 95 internamentos com pé diabético infetado em 2008 e 94 internamentos em 2013. Foram obtidas culturas de microrganismos na lesão em 64 dos casos de 2008 (67,3 %) e em 68 dos casos de 2013 (72,3 %), uma diferença não significativa ($p > 0,05$). Os episódios sem resultado microbiológico foram excluídos do estudo, dada a impossibilidade de distinguir com precisão, através dos registos clínicos, se as culturas eram estéreis ou se não haviam sido colhidas amostras. Seis doentes em 2008 e três doentes em 2013 tiveram dois internamentos com resultado microbiológico positivo.

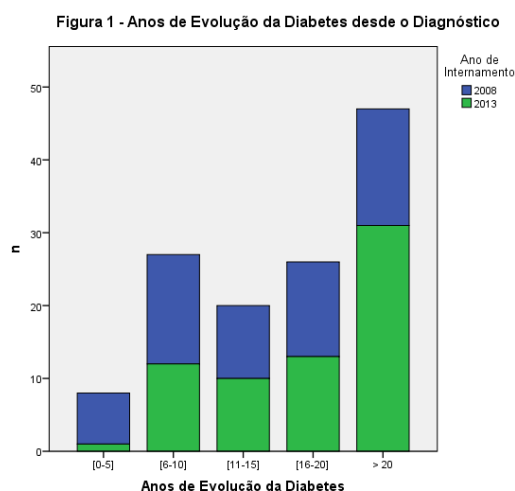
Os dados demográficos e clínicos obtidos dos 132 casos selecionados para o estudo encontram-se na Tabela I. Nas variáveis categóricas, os dois grupos diferem significativamente ($p < 0,05$) no tipo de diabetes, tipo de pé diabético e presença de sinais de infeção, com um aumento notório no registo de pés neuroisquémicos e da presença de sinais sistémicos de infeção entre 2008 e 2013. A proporção de homens aumentou de 65,6 % para 77,9 % entre ambas as datas, mas a diferença não é estatisticamente significativa.

Nas variáveis contínuas, verificou-se uma diminuição no valor médio da HbA1c entre 2008 e 2013 (9,5 % vs 8,6 %). Não sendo uma variável paramétrica não foi realizado nenhum teste de significância estatística. Verifica-se um aumento da idade média entre 2008 e 2013 de 3,3 anos, estatisticamente não significativo.

2008				2013			<i>p</i>
<i>n</i>	64			68			0,456
Idade média	58,8 ± 12,2			62,1 ± 12,2			0,122
Sexo	M 42 (65,6 %)	F 22 (34,4 %)		M 53 (77,9 %)	F 15 (22,1 %)		0,115
Tipo de Diabetes	DM 1 9 (14,1 %)	DM 2 51 (80,0 %)	Outra 1 (1,6 %)	DM 1 11 (16,2 %)	DM 2 48 (70,6 %)	Outra 9 (13,2 %)	0,042
HbA1c média	9,5 %			8,6 %			-
Tipo de Pé	Neuropático 37 (57,8 %)	Neuroisquémico 21 (32,8 %)		Neuropático 27 (39,7 %)	Neuroisquémico 41 (60,3 %)		0,007
Sinais sistémicos	6 (9,4 %)			19 (27,9 %)			0,005

Tabela I - Características clínicas e demográficas das duas populações em estudo e significância das diferenças entre estas

Na Figura 1 observa-se a distribuição do tempo estimado de evolução da diabetes desde o diagnóstico em 2008 e 2013. Enquanto em 2008 é mais frequente a diabetes com menos de 10 anos de evolução (36,1 % em 2008 vs 19,4 % em 2013), em 2013 é consideravelmente maior o número de internamentos em doentes com mais de 20 anos de evolução conhecida da doença (26,2 % em 2008 vs 46,3 % em 2013).



	2008	2013
Tempo de Internamento (dias)*	23,0 ± 11,7	18,9 ± 9,3
Amputação**		
<i>Minor</i>	14 (21,9 %)	23 (33,8 %)
<i>Major</i>	4 (6,3 %)	6 (8,8 %)
Mortalidade	0	3 (4,4 %)

*($t = 2,163$ / $p = 0,033$)

** ($\chi^2 = 3,047$ / $p = 0,218$)

Tabela II - Tempo de internamento, taxas de amputação e de mortalidade

Em relação aos *outcomes* clínicos (Tabela II), a diferença mais notória foi ao nível do tempo de internamento, que, em 2013, registou uma diminuição média superior a 4 dias em relação a 2008. As taxas de amputação *minor* e *major* aumentaram em 2013, embora de forma não significativa. Foram registados 2 falecimentos durante o internamento, ambos em 2013, e 1 falecimento até aos 30 dias após a alta, também em 2013.

Verificou-se um aumento significativo de culturas polimicrobianas em 2013 (Tabela III), em que corresponderam a 58,8 % do total (40,6 % em 2008). O método de obtenção da amostra microbiológica também variou significativamente (Tabela IV), tornando-se maioritárias em 2013 as culturas de amostras obtidas através de biópsia ou tecidos de desbridamento cirúrgico, quando eram manifestamente infrequentes em 2008 (4,7 % em 2008 vs 57,4 % em 2013). As culturas obtidas através de tecidos foram as que mais vezes originaram culturas polimicrobianas em 2013 mas não foi excluída a hipótese de o número de agentes isolados por cultura ser independente do método de recolha da amostra (2008: $p = 0,188$; 2013: $p = 0,109$).

	2008	2013
Monomicrobianas	38 (59,4 %)	28 (41,2 %)
Polimicrobianas	26 (40,6 %)	40 (58,8 %)
Total	64	68

($\chi^2 = 4,368 / p = 0,037$)

Tabela III - Culturas monomicrobianas e polimicrobianas

	2008	2013
Exsudado	42 (65,6 %)	21 (30,9 %)
Tecidos	3 (4,7 %)	39 (57,4 %)
Aspiração	19 (29,7 %)	8 (11,8 %)
Total	64	68

($\chi^2 = 42,256 / p = 0,000$)

Tabela IV - Modo de obtenção das amostras para cultura microbiológica

Em ambos os anos, as frequências relativas dos diversos grupos de microrganismos mantiveram-se relativamente inalteradas (Tabela V). As bactérias gram-positivo foram o grupo de agentes mais vezes identificado (61,9 % em 2008 vs 56,6 % em 2013), sendo o *Staphylococcus aureus* a espécie mais representada. *Enterococcus* spp. foram isolados em cerca de um quinto das amostras, sendo a vasta maioria *E. faecalis* ($n = 17$ em 2008 e $n = 24$ em 2013) mas havendo também isolamentos de *E. avium* ($n = 1$ em 2008), *E. faecium* ($n = 1$ em 2013) e *E. raffinosus* ($n = 2$ em 2013). Foram identificados 9 agentes *Streptococcus* spp. em cada ano. Todos os agentes de 2013 eram *S. agalactiae*, enquanto em 2008 isolaram-se *S. agalactiae* ($n = 6$), *S. viridan* ($n = 2$) e *S. pyogenes* ($n = 1$). Em ambos os anos, isolamentos mais esporádicos de *Staphylococcus* coagulase-negativo (CN) e *Corynebacterium* spp. completam o lote de agentes gram-positivo aeróbios.

Entre os agentes Gram-negativo (38,1 % do total em 2008 vs 41,9 % em 2013), as bactérias da família *Enterobacteriaceae* são claramente dominantes. *Proteus* spp. foram o gênero mais frequentemente encontrado. Com a exceção de um agente *P. vulgaris* (2013), os restantes isolamentos foram de *P. mirabilis* ($n = 8$ em 2008 e $n = 12$ em 2013). Outras *Enterobacteriaceae* encontradas, com frequência relativa superior a 4 % em ambos os anos, foram *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. (*K. pneumoniae* e *K. oxytoca*) e *Morganella morganii*.

O segundo agente individual mais frequente em ambos os anos, no grupo dos agentes gram-negativo, foi a espécie *Pseudomonas aeruginosa* com 6 ocorrências em 2008 e 9 ocorrências em 2013. Os outros agentes gram-negativo não fermentativos encontrados foram *Acinetobacter* e *Stenotrophomonas*.

Apenas em 2013 houve identificação de anaeróbios estritos, com duas ocorrências de *Finegoldia magna* (anteriormente designado *Peptostreptococcus magnus*).

	2008	2013
Organismos por amostra	1,5	1,9
Aeróbios	97 (100 %)	127 (98,4 %)
Gram-positivo	60 (61,9 %)	73 (56,6 %)
<i>Staphylococcus</i> spp.		
<i>Staphylococcus aureus</i>	26 (26,8 %)	30 (23,3 %)
<i>Staphylococcus</i> CN	5 (5,2 %)	2 (1,6 %)
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (9,3 %)	9 (7,0 %)
<i>Enterococcus</i> spp.	18 (18,6 %)	27 (20,9 %)
<i>Corynebacterium</i> spp.	2 (2,1 %)	5 (3,9 %)
Gram-negativo	37 (38,1 %)	54 (41,9 %)
<i>Enterobacteriaceae</i>	29 (29,9 %)	40 (31,0 %)
<i>Escherichia coli</i>	4 (4,1 %)	8 (6,2 %)
<i>Klebsiella</i> spp.	4 (4,1 %)	7 (5,4 %)
<i>Morganella morganii</i>	4 (4,1 %)	5 (3,9 %)
<i>Proteus</i> spp.	8 (8,2 %)	13 (10,1 %)
Outras <i>enterobacteriaceae</i>	9 (9,3 %)	7 (5,4 %)
Bacilos não fermentativos	8 (8,2 %)	12 (9,3 %)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6 (6,2 %)	9 (7,0 %)
<i>Acinetobacter</i> spp.	1 (1,0 %)	3 (2,3 %)
<i>Stenotrophomonas</i> spp.	1 (1,0%)	0
Outros Gram-negativo	0	2
Anaeróbios	0	2 (1,6 %)
Totais	97	129

Nota: As percentagens referem-se ao número total de organismos isolados em cada ano

Tabela V - Microrganismos Isolados

Relativamente aos testes de sensibilidade a antibióticos (TSA), dada a multiplicidade de microrganismos e antimicrobianos diferentes utilizados ($n = 32$), a generalidade dos resultados não são em número estatisticamente significativo para permitir conclusões definitivas. A alteração mais evidente é a redução do número de estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina (MRSA) entre 2008 e 2013 (Tabela VI), embora ainda assim falte alguma significância estatística à relação. Nos *Staphylococci* coagulase-negativo, foi encontrada resistência à oxacilina em quatro dos cinco testes realizados em 2008 e nos três testes realizados em 2013. Todos os *Staphylococci*, independentemente da espécie e do ano, foram sensíveis à vancomicina.

	2008	2013
MSSA	10 (38,5 %)	19 (63,3 %)
MRSA	16 (61,5 %)	11 (36,7 %)
Total	26	30

($\chi^2 = 3,451 / p = 0,063$)

Tabela VI - Estirpes de *Staphylococcus aureus*

Foi encontrada uma estirpe de *Enterococci* resistente à ampicilina e à vancomicina em 2013, com uma pesquisa de genes positiva para o gene *vanA*. Todos os outros *Enterococci* foram sensíveis à ampicilina e sem TSAs realizados à vancomicina.

Uma estirpe de *Klebsiella* isolada em 2008 e outra em 2013 foram classificadas no relatório microbiológico como produtoras de beta-lactamases de espectro alargado (ESBL). Os TSA realizados nas estirpes de *E. coli* não são suficientes para caracterizá-las como ESBL ou excluir essa possibilidade. No entanto, relativamente a este microrganismo, é de notar que em 2008 foi detectada apenas uma estirpe resistente à ciprofloxacina em quatro testes e em 2013 foram detectadas sete estirpes resistentes em oito testes (87,5 %). Duas estirpes em oito de *Pseudomonas* apresentaram resistência à piperaciclina/tazobactam, um fármaco de primeira linha no protocolo de antibioterapia empírica para internamento de pé diabético infectado em uso no Serviço de Endocrinologia do CHP.

O padrão de resistência do género *Proteus* manteve-se relativamente constante entre 2008 e 2013, com cerca de metade das estirpes de ambos os anos a apresentarem multiresistência a cotrimoxazol, ampicilina, gentamicina e ciprofloxacina.

Discussão

Foram encontradas diferenças nas características clínicas e demográficas das duas populações em estudo. Embora a diferença de idade média de 3,3 anos não seja estatisticamente significativa, a conjugação desta informação com aumento do tempo médio de evolução da diabetes e com o aumento na percentagem de doentes com pé neuroisquémico (que geralmente sucede ao pé neuropático na história natural da doença⁴), fazem pensar na possibilidade de em 2013 estarmos perante uma população mais envelhecida em relação a 2008. O predomínio do sexo masculino em relação ao feminino é consistente com outros estudos sobre o tema^{12,13}.

Apesar de uma taxa ligeiramente superior de amputações e de mais frequentemente apresentarem sinais sistémicos de infeção, os doentes internados em 2013 tiveram uma redução significativa do tempo médio de internamento, superior a quatro dias em relação a 2008. Este fato pode indiciar uma melhoria da prática clínica e uma boa adequação do protocolo de antibioterapia empírica em vigor no Serviço de Endocrinologia do CHP desde 2009. No entanto, para aferir a importância deste último fator, seria importante comparar o tratamento empírico efetuado após 2009 com anos anteriores, algo que escapa ao âmbito deste trabalho e que depende de uma boa sistematização e rigor na elaboração registos clínicos. Apenas foi encontrada mortalidade intra-hospitalar/até aos 30 dias após a alta no ano de 2013 (três ocorrências), mas a existência de evidentes inconsistências nos registos eletrónicos de óbito impossibilita comparações a este nível no presente estudo.

Relativamente ao método de colheita de amostras para cultura microbiológica, a diferença significativa encontrada entre 2008 e 2013, com um aumento notório de biópsias de tecidos e uma diminuição no número de exsudados, é um sinal de melhoria da prática clínica de diagnóstico, sendo considerada preferencial por diversas fontes^{12,14} e estando de acordo com *guidelines* de excelência clínica recentes⁸.

O aumento do número de microrganismos isolados foi a única alteração significativa do perfil microbiológico de ambas as populações em estudo (excluindo os testes de sensibilidade aos antimicrobianos). Em termos de categorias de microrganismos identificados, e das frequências relativas dos agentes mais comuns, os resultados foram similares. Há um predomínio de agentes gram-positivo, sendo o *Staphylococcus aureus* o organismo mais frequentemente encontrado e *Enterococcus* spp. o segundo agente mais frequente (em 2008 e em 2013). Os outros microrganismos mais isolados (em ambos os grupos, embora com ligeira diferença na ordem) são do género *Streptococcus* spp., *Proteus* spp. e da espécie *Pseudomonas*

aeruginosa. Estas cinco espécies/géneros constituem 69,1 % dos agentes isolados em 2008 e 68,3 % dos agentes isolados em 2013.

Este padrão de predomínio gram-positivo/*S. aureus* é consistente com a epidemiologia “ocidental” do pé diabético, corroborada por diversos estudos internacionais¹¹, e também coincidente com um estudo realizado em Portugal em 2012¹². No entanto, outra investigação realizada no nosso país em 2011 (referente ao ano de 2010) apresenta resultados similares na população em estudo, mas diferentes no sub-grupo de doentes hospitalizados, onde estão em maior número os agentes gram-negativo⁷. O predomínio de agentes gram-negativo verifica-se também em investigações realizadas em países situados noutros continentes, nomeadamente Egito¹⁵, Índia^{13,16} e Brasil¹⁶.

Foram detetados apenas dois agentes anaeróbios, ambos da mesma espécie (*Finnegoldia magna*), e ambos em 2013. A taxa de deteção de anaeróbios na infeção do pé diabético é altamente dependente dos protocolos de colheita e cultura utilizados¹¹. Em 2008, não consta de nenhum dos relatórios microbiológicos observados a menção do exame cultural de anaeróbios, de modo que não é surpreendente a sua ausência. Em 2013 foram realizados 18 exames culturais para pesquisa de anaeróbios (26,4 % do total de exames).

O papel dos anaeróbios na infeção do pé diabético ainda não está completamente compreendido, e poucos estudos acerca da microbiologia desta doença têm protocolos adequados a contabilizar adequadamente o seu número¹¹. No entanto, em estudos prospetivos desenhados com o propósito de compreender também a prevalência desses agentes, o número de anaeróbios identificados chega a aproximar-se de 30 % do total de microrganismos, incluindo um estudo realizado em Portugal^{11,12}. Como tal, não é crível que a proporção de microrganismos anaeróbios encontrados nesta investigação corresponda à realidade, sobretudo se tivermos em conta que se trata de uma população hospitalizada onde as lesões profundas são relativamente frequentes.

De igual forma, em outros trabalhos, o número de organismo identificados por amostra pode ser bastante superior ao que se encontrou nesta investigação, podendo atingir a quantidade de oito isolamentos¹¹. Nesta investigação a quantidade máxima de agentes diferentes identificados numa só amostra foi de quatro. Além das diferentes metodologias de colheita e perfil microbiológico da região geográfica em questão, poderão influenciar esta variável os diferentes protocolos dos laboratórios de microbiologia, que registam como comensal (sem identificação no relatório) determinados agentes, alguns dos quais podem efectivamente ser patógenos em situações particulares como a do pé diabético infetado.

Tendo em conta que os protocolos de tratamento empírico do pé diabético infetado devem ser baseados na ecologia microbiana local, é importante uma reavaliação frequente das metodologias utilizadas na prática clínica e laboratorial de diagnóstico, de forma a que o tratamento possa ser adequado em relação às prevalências das diferentes espécies de patógenos¹¹.

De grande relevância, é também a evolução temporal do perfil de resistências microbianas aos antibióticos. Na presente investigação registou-se uma evolução no sentido de diminuição da prevalência de MRSA em relação a 5 anos antes. Embora careça de mais forte validação estatística do que a que foi obtida neste trabalho, não deixa de ser um dado encorajador, e possivelmente um indicador de boa prática clínica no âmbito das precauções universais ou de uma antibioterapia empírica adequada, visto saber-se que o MRSA tende a ser mais frequente em doentes com úlceras de longa duração e sujeitos a antibioterapia prévia com fluoroquinolonas ou internamentos anteriores¹².

Os restantes resultados de sensibilidade antimicrobiana não têm poder estatístico suficiente para permitir conclusões, mas ainda assim são relevantes de um ponto de vista descritivo. A presença de agentes gram-negativo *Enterobacteriaceae* produtores de ESBL é um desafio cada vez mais relevante na infecologia atual, assim como o desenvolvimento de estirpes multi-resistentes noutras famílias de organismos.

O protocolo de antibioterapia empírica para internamento de pé diabético infetado mantém-se atualizado. Quase todos os agentes sujeitos a TSA em 2013 mantêm-se suscetíveis à piperacilina/tazobactam, a combinação de primeira linha utilizada. A exceção foram duas estirpes de *Pseudomonas* resistentes a esse antibiótico e pelo menos uma destas com um perfil de multiresistência que também incluía o imipenem, agente de segunda linha no combate à infeção.

Este trabalho de investigação apresentou algumas das limitações inerentes aos estudos observacionais retrospectivos, nomeadamente a impossibilidade de medir diretamente as variáveis de interesse e estar limitado aos registos clínicos passados, que tendem a ser incompletos e de exploração morosa. A existência de notas de alta organizadas foi então de grande utilidade e um testemunho à utilidade científica da organização e arquivamento de informação clínica rigorosa. No entanto, devido ao seu carácter sucinto, não foi possível, por exemplo, procurar relações entre as características dos doentes internados e os isolamentos microbiológicos obtidos, uma vez que as variáveis clínicas e demográficas obtidas não estabeleceram qualquer relação significativa com os grupos de agentes isolados. De facto, a informação disponível sobre o tema diz-nos que estes últimos se correlacionam com variáveis

que não estavam facilmente disponíveis nas fontes deste estudo, como por exemplo a caracterização completa da úlcera (PEDIS), o seu tempo de evolução, modos de colheita e cultura de amostras e um cronograma detalhado da antibioterapia recente efetuada pelo doente^{11,12}.

Assim sendo, recomenda-se que sejam feitos mais estudos prospetivos sobre este tema, em que tais variáveis possam ser adequadamente medidas, os protocolos de amostragem rigorosamente estabelecidos e controlados, e assim obter mais informação que permita complementar os dados já disponíveis de estudos recentes efetuados no nosso país^{7,12}. A caracterização microbiológica de organismos patogénicos e dos seus perfis de resistência é um processo contínuo e do qual depende o estabelecimento de protocolos terapêuticos empíricos que sejam eficazes para o doente em particular e eficientes para o sistema de saúde em geral.

Referências Bibliográficas

- 1- Wild, Sarah et al. 'Global Prevalence Of Diabetes - Estimates For The Year 2000 And Projections For 2030'. *Diabetes Care* 27.5 (2004): 1047-1053. Print.
- 2- 'Diabetes - Factos E Números - Portugal 2014'. *Relatório Anual do Observatório Nacional de Diabetes* (2014): Print.
- 3- Apelqvist, J. et al. 'Practical Guidelines On The Management And Prevention Of The Diabetic Foot'. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 24.S1 (2008): S181-S187. Web.
- 4- Mendes, JJ, and J Neves. 'Diabetic Foot Infections: Current Diagnosis And Treatment'. *The Journal of Diabetic Foot Complications* 4.2 (2012): 26-45. Print.
- 5- Prompers, L. et al. 'High Prevalence Of Ischaemia, Infection And Serious Comorbidity In Patients With Diabetic Foot Disease In Europe. Baseline Results From The Eurodiale Study'. *Diabetologia* 50.1 (2006): 18-25. Web.
- 6- Richard, Jean-Louis. 'New Insights In Diabetic Foot Infection'. *WJD* 2.2 (2011): 24. Web.
- 7- Cabete, Joana et al. 'Caracterização Do Perfil Microbiológico E Da Sensibilidade Antimicrobiana Dos Microrganismos Isolados Em Úlceras Diabéticas De Doentes De Um Hospital Português'. *Revista Portuguesa de Cirurgia Cardio-Torácica e Vascular* XVIII.1 (2012): 53-60. Print.
- 8- Tan, T. et al. 'Inpatient Management Of Diabetic Foot Problems: Summary Of NICE Guidance'. *BMJ* 342.mar23 2 (2011): d1280-d1280. Web.
- 9- Lipsky, B. A. et al. 'Expert Opinion On The Management Of Infections In The Diabetic Foot'. *Diabetes Metab Res Rev* 28 (2012): 163-178. Web.
- 10- Lipsky, B.A. 'Empirical Therapy For Diabetic Foot Infections: Are There Clinical Clues To Guide Antibiotic Selection?'. *Clinical Microbiology and Infection* 13.4 (2007): 351-353. Web.
- 11- Citron, D. M. et al. 'Bacteriology Of Moderate-To-Severe Diabetic Foot Infections And In Vitro Activity Of Antimicrobial Agents'. *Journal of Clinical Microbiology* 45.9 (2007): 2819-2828. Web.
- 12- Mendes, J.J. et al. 'Clinical And Bacteriological Survey Of Diabetic Foot Infections In Lisbon'. *Diabetes Research and Clinical Practice* 95.1 (2012): 153-161. Web.

- 13- Ramakant, P. et al. 'Changing Microbiological Profile Of Pathogenic Bacteria In Diabetic Foot Infections: Time For A Rethink On Which Empirical Therapy To Choose?' *Diabetologia* 54.1 (2010): 58-64. Web.
- 14- Lipsky, Benjamin A. et al. 'Diagnosis And Treatment Of Diabetic Foot Infections'. *Plastic and Reconstructive Surgery* 117.SUPPLEMENT (2006): 212S-238S. Web.
- 15- Hefni, Abd Al-Hamead, and Al-Metwally R. Ibrahim. 'Bacteriological Study Of Diabetic Foot Infection In Egypt'. *Journal of the Arab Society for Medical Research* 8 (2013): 26-32. Web.
- 16- Oliveira, Alexandre Faraco de, and Horácio de Oliveira Filho. 'Microbiological Species And Antimicrobial Resistance Profile In Patients With Diabetic Foot Infections'. *J. vasc. bras.* 13.4 (2014): 289-293. Web.

